مجلة البصرة للعلوم الزراعية ، المجلد 23 ، العدد ١ ، ٢٠١٠

تحضير متحللين بروتينين من أرجل الدجاج ورؤوس وقشور الروبيان بالهضم الأنزيمي واختبار كفاءتهما في النمو الميكروبي

أم البشر حميد جابر الموسوي روضة محمود علي محمد زيارة اسكندر *

قسم علوم الأغذية والتقانات الاحيائية،كلية الزراعة ،جامعة البصرة

الخلاصة

تضمنت الدراسة تحضير نوعين من المتحللات البروتينية من المخلفات الحيوانية التي شملت(أرجل الدجاج وقشور ورؤوس الروبيان) باستعمال الطريقة الإنزيمية بواسطة إنزيم فطري تجاري (رنزيم)بعد قياس الفعالية النوعية إذ كانت ٣٦.٧ (وحدة/ملغم). درس التركيب الكيميائي للمتحللين المحضرين والتي شملت النسب المئوية لكل من المواد الصلبة الكلية، النتروجين الكلي ، الرطوبة ،البروتين ، الدهن ، الرماد والكربوهيدرات اضافة الحساب الحاصل، كما قدرت درجة التحلل للمتحللين المحضرين. والصفات الفيزيائية لهذه المتحللات (الرقم الهيدروجيني واللون) ثم اختبر أفضل تركيز في تحضير الأوساط الزرعية وكان ١٢% للمتحلل C الذي تم تحضيره من ارجل الدجاج و ٨% للمتحللD الذي تم تحضيره من روؤس وقشور الروبيان. ادخل المتحللين في نوعين من الأوساط المستعملة لتنمية البكتريا ، الأول وسط مرق الببتون والثاني وسط المرق المغذي بعد رفع الببتون منهما ،ودرست مدى قابلية هذه الأوساط على دعم نمو الأحياء المجهرية الهوائية من خلال زرع عينات طبيعية (ماء، تربة، حليب خام ولحم مفروم)عليها والحضن لمدتي ٢٤و٤٨ ساعـــــة ومقارنتها مع أوساط زرعية تجارية وكذلك تنمية بعض السلالات البكتريا المنتخبة *Lactobacillus casei*,*Escherichia coli* (*Streptococcus spp*, ,*Staphylococcus aureus*) واخذ القراءات لها اذا اعطت نتائج مقاربة مع الاوساط التجارية .

* البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث

المقدمة

يعد استعمال مخلفات المجازر من قبل الكثير من الدول النامية بعيدة عن الاهتمام الجدي وتبقى المشكلة الوحيدة لدى المسؤولين عن هذه المخلفات هو التركيز على كيفية التخلص منها بوصفها نفايات تؤدي إلى أضرار صحية وخيمة وهذا لا يدل على جهل القائمين على هذه المجازر بقيمة هذه المواد ولكن مدى الاستفادة من هذه المخلفات ترتبط بالحاجة إلى إمكانية معينة تتطلب تحويلها إلى مواد نافعة ذات قيمة اقتصادية (17).

إن رمي المخلفات الحيوانية والنواتج العرضية ومخلفات الأسماك والروبيان تسبب مشكلتين رئيستين ،الأولى هي فقدان الكميات الضخمة من المواد المغذية مثل البروتين والدهون والأملاح المعدنية ، والثانية ان رمي مثل هذه الكميات الكبيرة تسهم إلى حد كبير في التلوث مما يؤدي إلىمشاكل بيئية واقتصادية كبيرة (٢، ٥). تطرح سنويا ألاف الأطنان من مخلفات الدواجن في العالم إذ تصل نسبة المخلفات حوالي ٢٠% من وزن الطير الحي، وقد أشار الجهاز المركزي للإحصاء في العراق ان كمية لحوم الدواجن لعام ١٩٩٩ بلغ ٧٢٠٠٠طن سنويا (١ ،٣). تعد مخلفات الروبيان هي الأخرى مصدر غني بالبروتين كما يمكن استعمالها في تصنيع متحللات بروتينية اذ تحتوي على مجموعة الأملاح المعدنية وصبغة (Astaxanthin) (٩).و تجرى عادة عملية تحلل البروتين اما بالطريقة الكيميائية (حامض ، قاعدة) او بالطريقة الإنزيمية (بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتينات). ويعد التحلل الإنزيمي الأفضل لتحسين خواص البروتين وأصبح واسع الاستعمال في صناعة المواد الغذائية لأنه يعطي المنتوج خواص وظيفية جيدة وقيمة غذائية عالية ، إلا انه يحتاج وقت طويل وكلفة عالية بسبب متطلبات تحضير المادة الأولية وإنتاج الإنزيم (١٠ ،٨). حازت البروتيزات الميكروبية أهمية كبيرة لدى الباحثين لكون الإحياء المجهرية المنتجة للبروتيزات كثيرة الأنواع وإمكانيتها في الإنتاج عالية فضلاً عن رخص عملية الإنتاج مقارنة مع باقي المصادر(٦) .ويعرف الببتون كبروتين متحلل قابل للذوبان في الماء ولا يترسب بالحرارة ، ويعد مصدر للنتروجين وهو المكون الأكثر غلاءً من بين مكونات الوسط الزرعي، وفي الوقت الحاضر يمكن الحصول عليه من مصادر نباتية وبروتينات معامل الألبان مثل الكازين والشرش ومخلفات المجازر (١١) . وتهدف الدراسة الحالية إلى تحضير وتوصيف المتحللات البروتينية من المخلفات الحيوانية بالهضم الانزيمي ودراسة تركيبها الكيميائي وصفاتها الفيزيائية وتقييم ادائها عبر إدخالها في تحضير أوساط زرعية متنوعة لدعم نمو الإحياء المجهرية المختلفة .

المواد وطرائق العمل

– المواد الأولية والعينات

تم الحصول على ارجل الدجاج وقشور وروؤس الروبيان من السوق المحلية في مدينة البصرة كناتج عرضي لعملية ذبح وتنظيف الدجاج وكناتج عرضي لعملية تنظيف الروبيان المحلي بدون اجراء عملية السلق الأولي ، غسلت جيدا بماء الحنفية الجاري وضعت في اكياس نايلون وحفظت بالتجميد على(– ١٨م° ± ٢) لحين الاستعمال. استعمل أنزيم فطري نوع Renzyme (رنزيم) الذي يستخدم في تصنيع الجبن ، من انتاج شركة (Green Wings) هولندي الصنع. واستخدم المرق المغذي Nutrient broth شركة (Oxoid) إنكليزي المنشأ ،المرق المغذي Nutrient broth شركة (BBL) إنكليزي المنشأ، ببتون Peptone شركة (Himedia) هندي المنشأ، ببتون Peptone شركة (Difco) أمريكي المنشأ ومستخلص الخميرة Yeast extract شركة (Oxoid) إنكليزي المنشأ. استعملت المواد التالية لغرض الفحص، تربة حديقة كلية الزراعة /جامعة البصرة، و ماء احد افرع شط العرب بالقرب من جامعة البصرة، وحليب خام (بقري) ، اخذ من حقل كلية الزراعة / جامعة البصرة ولحم بقري (مفروم)، جلب من السوق المحلية. واستعملت الاحياء المجهرية التالية *Escherichia coli* ، *Lactobacillus casei* ، *Staphylococcus aureus* ، *Streptococcus* spp مصدر جميع الأحياء المجهرية المستعملة في الدراسة من كلية العلوم ــ جامعة البصرة .وجميع المواد الكيميائية المستعملة في الدراسة من النوع التحليلي Analytical Reagents

طرائق العمل

التحليل الكيميائي – أجريت التحليلات الكيميائية بثلاث مكررات .

تم تقدير البروتين حسب طريقة مايكروكلدال Semi-micro kjeldahl كما موضحة من قبل (١٤) وتم تقدير الدهن والرطوبة والرماد كما موضحة في (4) وقدرت الكربوهيدرات بالفرق من طرح مجموع المكونات من ١٠٠ وحسب ما ذكر في(١٤). وقدرت الفعالية النوعية Specific Activity للإنزيم المستخدم في الدراسة (إنزيم فطري) حسب طريقة (٢٠). وقدر تركيز البروتين حسب طريقة (١٣). وقدرت درجة التحلل المائي(DH) Degree of Hydrolysis للبروتين حسب طريقة(٢١).

تحضير المتحللات البروتينية

اتبعت طريقةUzeh (١٩) في تحضير المتحلل البروتيني لكل من أرجل الدجاج وخليط قشور وروؤس الروبيان بالطريقة الإنزيمية مع اجراء بعض التحويرات الطفيفة عليها وشملت.

١- وزن ٥٠غم لكل من العينتين المجمدة وخلطت جيداً بمقدار ٢٠٠مل من الماء المقطرو بسترت عند ٦٣م° لمدة٣٠ دقيقة بعدها عُدل الرقم الهيدروجيني للمزيج الى ٦.٨ بالحامض لخليط قشور ورؤوس الروبيان والقاعدة لأرجل الدجاج .

٢- وضع المزيج في حمام مائي بدرجة حرارة ٣٨ م ولحين الوصول الى الدرجة الحرارية المطلوبة(٣٨ م°)، اضيف الانزيم الفطري بنسبه ٤% من وزن العينة تدريجيا بعد خلطه بكمية قليلة من الماء المقطر وبفعالية نوعية مقدارها ٣٦.٧ وحدة/ملغم.

٣- ترك المزيج في الحمام المائي لمدة ٩ ساعات وهي المدة المحددة للتحلل مع مراعاة التحريك من فترة لاخرى، وبعد انتهاء مدة التحلل قيست درجة التحلل، واستبعدت الاجزاء غير المتحللة بترشيح الخليط بواسطة الصوف الزجاجي وثبطت فعالية الانزيم بتسخين الراشح الى ٩٠م°/١٠ دقائق.

٤- برد الراشح الى ١٠م° وقشطت الطبقة العليا (الدهن) جيداً.

٥- رشح الناتج بورق الترشيح Whatman No.(1) لمرتين وعدل الرقم الهيدروجيني الى٧.

٦- بستر الخليط عند ٦٣م°/٣٠ دقيقة واجريت التحليلات الكيميائية لمعرفة تركيبه الكيميائي حفظت المتحللات البروتينية بالتجميد لحين الاستخدام وسمي المتحلل الإنزيمي المحضر من أرجل الدجاج بالمتحلل C والمتحلل الإنزيمي المحضر من خليط قشور ورؤوس الروبيان بالمتحلل D.

إدخال المتحللات البروتينية المحضرة في الأوساط الزرعية

اختبار التركيز الأفضل

تم اتباع الخطوات الاتية:-

١- استعملت تراكيز مختلفة لكل من المتحللين المحضرينC وD لمعرفة التركيز الأفضل لا ستعمالها في التجارب اللاحقة اذ تم اختيار تراكيز زوجية تراوحت بين ٠-١٤%

٢- حضر وسط المتحلل السائل حسب طريقة (١٩) وذلك بإضافة 0.1% كلوكوز لكل تركيز وعدل الرقم الهيدروجيني إلى ٧±0.2 بواسطة 1N NaOH.

٣-وضع ١٠ مل من وسط المتحلل السائل المحضر لكل تركيز في أنبوب اختبار (بمكررين)، بعدها عقمت الأوساط المحضرة في المؤصده في١٢١م° لمدة ١٥دقيقة وبضغط ١٥باوند/انج٢ .

وأجريت التخافيف المطلوبة للمواد المراد فحصها (التربة ، الماء، الحليب الخام ، اللحم المفروم) ثم لقحت الأنابيب التي تحتوي على وسط المتحلل السائل لكل تركيز بإضافة 0.1مل من التخفيف المناسب لكل من المواد المراد فحصها (بمكررين) مع تحريك الأنابيب جيدا. وحضنت الأنابيب عند 35– 37م°لمدة ٤٨ ساعة، تم تقدير كثافة النمو الحاصل للاحياء المجهرية بقراءة الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجي ٥٤٠ نانومتر وسجلت القراءة لكل أنبوب واخذ المعدل لها.

المقارنة بين المتحللين المحضرين والببتونات التجارية بوسط مرق الببتون

بعد معرفة افضل تركيز لكل المتحللين المحضرين من خلال التجربة السابقة .

١– حضر وسط مرق الببتون حسب طريقة (١٩) بإضافة ٠.١% كلوكوز الى كل افضل تركيز من المتحللين المحضرين واضافة 0.1%كلوكوز الى 0.5 % ببتون تجاري من شركة Difco وببتون من شركة Himedia واكمل الحجم المطلوب بالماء المقطر وعدل الرقم الهيدروجيني الى ٧ ±٠.٢ بواسطة1N NaOH.

٢– تم نقل ١٠مل من كل وسط سائل محضر الى١٦ انبوب اختبار وقسمت الانابيب الى مجموعتين (كل وسط ٨ انابيب اختبار لكل مجموعة).

٣– أجريت التخافيف المطلوبة للمواد المراد فحصها (التربة ، الماء،الحليب الخام ، اللحم المفروم) ولقحت المجموعة الأولى من الأوساط المحضرة السائلة بمقدار ٠.١ مل من التخفيف المناسب لكل من المواد الاربعة اعلاه (بمكررين).

٤–تم تنشيط المزارع البكتيرية النقية الأربع (*Streptococcus. spp, Stahp. aureus, L. casei, E.coli*) على وسط المرق المغذي وبعمر ١٨–٢٤ ساعة ولقحت المجموعة الثانية بمقدار ٠.١مل لكل مزرعة و(بمكررين) حضنت المجموعتان على٣٥–٣٧م° وبعدها قرئ الامتصاص الضوئي لها عند طول موجي ٥٤٠ نانومتر بعد ٢٤ و٤٨ ساعة على التوالي وسجلت القراءات واخذ المعدل.

المقارنة بين الأوساط (المرق المغذي) المحضرة من المتحللين المحضرين والأوساط التجارية

حضر وسط المرق المغذي لأفضل التراكيز من المتحللات البروتينية المحضرة والتي أعطت أفضل نمو من التجربة الأولى وحسب الطريقة المتبعة من قبل شركة Oxoid لإنتاج الأوساط الزرعية، اذ تكون الوسط الزرعي من (مستخلص الخميرة ٠.١% وكلوريد الصوديوم ٠.٥% + ببتون ٠.٥%) واستبدل الببتون بأفضل تركيز من المتحللين المحضرين واكمل الحجم

المطلوب بالماء المقطر وعدل الرقم الهيدروجيني إلى ٧ ±٠.٢ بواسطة 1N NaOH. واستعمل وسطين تجاريين لغرض المقارنة وهي المرق المغذي من شركة Oxoid وشركة BBL وحضر الوسطان حسب تعليمات الشركة المنتجة. وتم اتباع نفس الخطوات السابقة في الفحص لكل من الأوساط السائلة والصلبة عدا قراءة امتصاصية الضوء فقد كانت عند طول موجي ٦٠٠ نانومتر. تم تسجيل قراءة الامتصاصية بعد ٢٤ و ٤٨ ساعة على التوالي وحساب المعدل لها.

النتائج والمناقشة

المحتوى الكيميائي للمواد الاولية

وضح الجدول (١) نتائج التحليل الكيميائي للمواد الأولية المستعملة في إنتاج المتحللين المحضرين (أرجل الدجاج ، خليط قشور ورؤوس الروبيان) . اذ لوحظ ان نسبة البروتين كانت مرتفعة في كلا العينتين إذ بلغت 18.7، 17.4 % على التوالي وبذلك فان هذه المواد تعتبر من مصادر البروتين المهمة إذ يمكن الاستفادة منها في إنتاج متحللات بروتينية رخيصة خصوصا ان أرجل الدجاج و مخلفات الروبيان ترمى عادة مسببة تلوثاً بيئيًا. بين الجدول أيضا ان نسبة الدهن في أرجل الدجاج كانت 10.2% في حين بلغت نسبة الدهن في مخلفات الروبيان 4.7% وكان المحتوى الرطوبي مرتفعا في كل من أرجل الدجاج ومخلفات الروبيان اذ بلغ 64.1 و64.6 % على التوالي .ولوحظ من الجدول ايضا ان نسبة الرماد مرتفعة في مخلفات الروبيان اذ وصلت 12.5% ويرجع السبب الى وجود كمية كبيرة من كاربونات الكالسيوم 15-30% في قشور الروبيان (١٥) وكانت نسبة الرماد في أرجل الدجاج 6.5 %وقد يعود السبب الى وجود العناصر المعدنية بنسبة عالية في العظام.

جدول (١) المحتوى الكيميائي لأرجل الدجاج وقشور ورؤوس الدجاج

المواد الأولية / التركيب الكيميائي(%)	أرجل الدجاج	قشور ورؤوس الروبيان
البروتين	18.7	17.4
الدهن	10.2	4.7
الرطوبة	64.1	64.6
الرماد	6.5	12.5
الكاربوهيدرات	**0.5**	**0.8**

المحتوى الكيميائي وبعض الخواص الفيزيائية للمتحللين المحضرين

وضح الجدول (٢) المحتوى الكيميائي لهذين المتحللين فوجد ان نسبة المواد الصلبة الكلية في كل من المتحللين

CوD قد بلغت 4.52، 4.07%، اما نسبة النتروجين الكلي في كل من المتحللين CوD كانت0.628 ، 0.453 % على التوالي ولذلك كانت نسبة البروتين 3.93، 2.83 % على التوالي ويعزى السبب الى ان عملية تحلل الكولاجين والكيراتين(Keratin) انزيميا تعد واطئة نوعا ما بسبب تركيبة البروتين الصعبة (١٢).

.

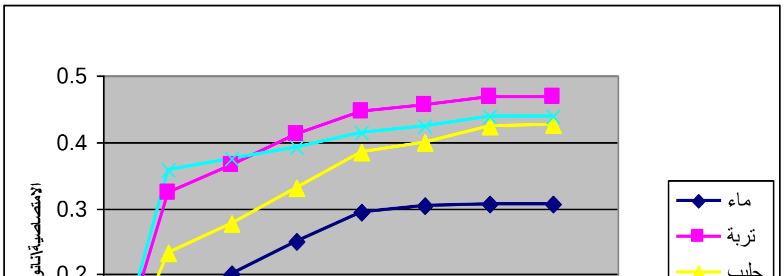
جدول (٢) المحتوى الكيميائي والخواص الفيزيائية للمتحللات البروتينية المحضرة

المكونات الكيميائية(%)		المواد الصلبة الكلية	النتروجين الكلي	البروتين	الرطوبة	الدهن	الرماد	الكاربوهيدرات	درجة التحلل %	الحاصل %	الأس الهيدروجيني	اللون
المتحللات البروتينية المحضرة	C	4.52	0.628	3.93	95.48	0.41	0.15	٠.٠٠٣	18.2	11.3	٧.٠	اصفر
	D	4.07	0.453	2.83	95.93	0.21	0.82	٠.٢١	22.4	10.17	٧.٠	بني فاتح

وكذلك وضح الجدول (٢) ان نسبة الدهن في كل من المتحللين C وD 0.41 و0.21 % على التوالي. اما نسبة الرماد فقد كانت الاعلى في كل من المتحللين C وD ٠.١٥و٠.٨٢% على التوالي وبينت النتائج في الجدول ان درجة التحلل في CوD بلغت 18.2و22.4 % على التوالي. ووجدت ان نسبة الحاصل لكل من CوD 11.3، 10.17 % على التوالي. ولوحظ ايضا ان لون المتحلل Cاصفر فاتح اذ استخدم الانزيم في تحضيره ،والمتحلل D له لون بني فاتح مائلاً للاحمرار وذلك بسبب صبغة (Astaxanthin) الموجودة في قشور الروبيان والتي تتأثر بالحرارة (٩) .

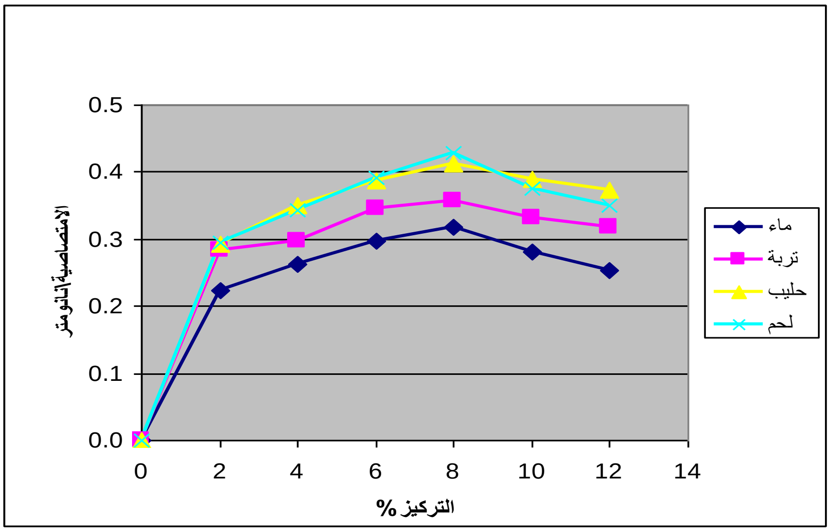
اختبار التركيز الأفضل لنمو البكتريا

يبين الشكلين (٢ و١) نتائج اختبار التركيز لافضل نمو للبكتريا لكل من المتحللين المحضرين CوD بعد إدخالها ضمن وسط المتحلل (السائل) وظهر ان التركيز صفر % لم يعط نمواً ملحوظاً لكلا المتحللين C وD وهذا يدل على حاجة الإحياء المجهرية الى النتروجين لصنع البروتينات والأحماض النووية (٧) . بين الشكل (١) ان التركيز١٢ % أعطى أعلى النتائج لعينات (الماء، التربة ، الحليب و اللحم) اذ كانت قراءة الامتصاصية 0.31، 0.47، 0.43، 0.44 نانومتر على التوالي وبعدها اخذت النتائج بالثبات تقريبا.



شكل (١) العلاقة بين تركيز المتحلل (C)% والامتصاصية(كثافة النمو)

ووضح الشكل (٢) ان افضل النتائج كانت عند تركيز 8% لعينات (الماء، التربة ، الحليب ، اللحم) اذ كانت قراءة الامتصاصية القيم 0.32، 0.36، 0.41، 0.43 نانومتر على التوالي ، كماولوحظ ان زيادة التركيز ادى الى انخفاض النمو في جميع العينات اذ أعطى تركيز ١٢% اقل قيم نمو لكل من العينات (الماء، التربة ، الحليب و اللحم) اذ كانت قراءة الامتصاصية (0.25، 0.32، 0.37، 0.35) نانومتر على التوالي .



شكل (٢) العلاقة بين تركيز المتحلل (D)% والامتصاصية(كثافة النمو)

المقارنة بين المتحللين المحضرين والببتونات التجارية بوسط مرق الببتون

يبين الجدول (٣) معدل كثافة النمو بدلالة قراءات الامتصاصية عند طول موجي (٥٤٠) نانومتر للمواد الطبيعية (ماء ، تربة ، حليب و لحم) لكل من وسط الببتون السائل المحضرة من

المتحللينCوD ومقارنتها مع وسطين محضرين من الببتون التجاري من شركة Himedia و Difco لفترة حضن (٢٤ و ٤٨) ساعة .

جدول (٣)مقارنة معدل قراءات الامتصاصية عند (٥٤٠) نانومتر لنمو البكتريا الهوائية الكلية لبعض المواد الطبيعية في وسط الببتون السائل لكل من المتحللينCوD المحضرة و نوعين من الببتون التجاري

العينات	الأوساط الزرعية				
	مدة الحضن/ساعة	C	D	Himedia	Difco
الماء	24	0.32	0.25	0.22	0.21
	48	0.42	0.41	0.48	0.47
التربة	24	0.29	0.28	0.31	0.23
	48	0.44	0.41	0.53	0.52
الحليب الخام	24	0.27	0.28	0.34	0.28
	48	0.42	0.40	0.55	0.60
اللحم المفروم	24	0.19	0.25	0.34	0.22
	48	0.46	0.44	0.50	0.55

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى ($p<0.05$) لكلا الوسطين وجميع العينات وللمدتين 24، 48 ساعة. ولوحظ ان القراءات لكثافة النمو عند مدة حضن ٢٤ ساعة كانت متفاوتة بين الاوساط المحضرة والتجارية وقد يرجع السبب الى قصر مدة الحضن وعدم استطاعة البكتريا للتطبيع على الاوساط المحضرة ، اما عند مدة حضن ٤٨ ساعة لوحظ ان قراءات الامتصاصية للاوساط المحضرة من المتحللينCوD لم تسجل فروقات معنوية عند مستوى ($p<0.05$).

وبين الجدول (٤) معدل قراءات الامتصاصية عند طول موجي (٥٤٠) نانومتر لبكتريا (*Streptococcus spp, Staph .aureus, L. casei, E. coli*) لكل من اوساط مرق الببتون المحضر من المتحللينCوD ومقارنتها مع وسطين محضرين من الببتون التجاري من شركة Himedia و Difco لمدة حضن (24–48) ساعة . اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروقات معنوية عند مستوى ($p<0.05$) في مدة حضن (٢٤) ساعة لجميع انواع البكتريا وجميع الاوساط المحضرة والتجارية ولوحظ ان قراءات الامتصاصية عند المدتين (24و48) ساعة كانت متقاربة اكثر من العينات الطبيعية جدول (٣) وقد يعود السبب الى تنشيط البكتريا

على وسط المرق المغذي لمدة (18ــ24) ساعة قبل تنميتها على الاوساط المحضرة مما ادى الى تطبيع البكتريا على الاوساط المحضرة بصورة اكبر من العينات الطبيعية جدول (٣).

جدول(٤) مقارنه معدل نمو بعض البكتريا الهوائية عند امتصاصية (٥٤٠) نانومتر على وسط الببتون السائل لكل من لمتحللينCوDو نوعين من الببتون التجاري

البكتريا	مدة الحضن/ساعة	C	D	Himedia	Difco
	الأوساط الزرعية				
E.coli	24	0.37	0.43	0.46	0.35
	48	0.41	0.40	0.51	0.52
L. casei	24	0.42	0.41	0.47	0.47
	48	0.58	0.51	0.55	0.56
Staph.aureus	24	0.45	0.44	0.39	0.38
	48	0.55	0.55	0.57	0.58
Streptococcus spp.	24	0.40	0.33	0.48	0.50
	48	0.44	0.43	0.51	0.53
LSD=0.014 (اقل فرق معنوي ($p<0.05$))					

ولوحظ ايضا من الجدول ان كل من الوسطين المحضرين من كل من المتحللينC وD له قراءة مقاربة بباقي الاوساط المحضرة من الببتون التجاري من شركي Himedia و Difco .

المقارنة بين انواع الاوساط (المرق المغذي) السائلة والصلبة المحضرة من المتحللات البروتينية والاوساط التجارية.

يوضح الجدول (٥) معدل كثافة نمو البكتريا بدلالة قراءات الامتصاصية عند طول موجي (٦٠٠) نانومتر لبعض المواد الطبيعية (ماء ، تربة ، حليب واللحم) لكل من اوساط المرق المغذي المحضرة من المتحللين C و D ومقارنتها مع وسطين تجاريين المرق المغذي من شركتي Oxoid و BBL لمدتي حضن ٢٤ و ٤٨ ساعة .

جدول (٥)مقارنة معدل نمو البكتريا الهوائية الكلية عند الامتصاصية (٦٠٠) نانومتر لبعض المواد الطبيعية على وسط المرق المغذي لكل من المتحللين C و D ونوعين من الاوساط الزرعية التجارية

	الأوساط الزرعية

BBL	Oxoid	D	C	مدة الحضن/ساعة	العينات
0.28	0.29	0.29	0.25	24	الماء
0.46	0.53	0.44	0.48	48	
0.33	0.31	0.32	0.26	24	التربة
0.52	0.52	0.45	0.44	48	
0.34	0.33	0.30	0.37	24	الحليب
0.53	0.51	0.46	0.49	48	
0.32	0.34	0.28	0.22	24	اللحم
0.52	0.51	0.46	0.42	48	

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى ($p<0.05$) لجميع الاوساط وجميع العينات وللمدتين ٢٤ و ٤٨ ساعة. اذ كانت قراءات الامتصاصية متقاربة مع بعضها البعض عند مدة حضن ٤٨ ساعة لكل من الوسط المحضرين من المتحللين C و D والتجاريين وقد يعود السبب الى تركيبة الوسط المغذي المحضر والذي يحتوي تركيبه على مستخلص الخميرة الذي يساعد على النمو بشكل أفضل وأسرع من الأوساط الخالية منه(١٨) .

اما عند مدة الحضن ٤٨ ساعة فلوحظ ان قراءات الامتصاصية لكل من الوسطين المحضرين من المتحللين C و D كانت متقاربة مع الوسطين التجاريين Oxoid و BBL .

وضح الجدول (٦) معدل كثافة نمو البكتريا بدلالة قراءات الامتصاصية عند طول موجي (٦٠٠) نانومتر لبكتريا *(Streptococcus spp, Staph.aureus, L. casei, E. coli)* لكل من أوساط المرق المغذي المحضر من المتحللين D،C، ومقارنتها مع نوعين من الأوساط المرق المغذي Oxoid و BBL ولمدة حضن 24و48 ساعة .

اذ يلاحظ ان معدل قراءات الامتصاصية عند مدة حضن ٢٤ ساعة لجميع البكتريا وجميع الأوساط كانت عالية ومقاربة مع قراءات الامتصاصية عند مدة حضن ٤٨ ساعة مقارنة بالعينات الطبيعية المذكورة في بالجدول (٤) وربما يعود السبب الى ان الأوساط المحضرة تحتوي على مستخلص الخميرة الذي يعد مصدرا ممتاز للفيتامينات وبالخصوص مجموعة فيتامين B فضلاً عن ذلك انه يرفع نسبة النتروجين العضوي بالوسط (١٦) .

جدول رقم(٦)مقارنه معدل نمو بعض البكتريا الهوائية الكلية عند الامتصاصية (٦٠٠) نانومتر على وسط المرق المغذي لكل من المتحللين C و D المحضرين مع نوعين من الأوساط التجارية

البكتريا	مدة الحضن/ساعة	C	D	Oxoid	BBL
		الأوساط الزرعية			
E.coli	**24**	**0.42**	**0.45**	**0.49**	**0.48**
	48	**0.52**	**0.53**	**0.57**	**0.58**
L. casei	**24**	**0.42**	**0.47**	**0.44**	**0.56**
	48	**0.57**	**0.53**	**0.62**	**0.61**
Staph.aureus	**24**	**0.54**	**0.44**	**0.50**	**0.50**
	48	**0.57**	**0.52**	**0.60**	**0.61**
***Streptococcus* spp.**	**24**	**0.41**	**0.35**	**0.49**	**0.48**
	48	**0.54**	**0.44**	**0.57**	**0.57**

ولوحظ من الجدول ايضا ان كل من الوسطين المحضرين من المتحللين C و D لهما قراءات الامتصاصية متقاربة من قراءات الامتصاصية للأوساط التجارية Oxoid و BBL . بالرغم من وجود بعض الفروقات المعنوية بينها عند مستوى ($P<0.05$) وهذا قد يعود الى طبيعة البكتريا المستخدمة وظروف الحضن .

المصادر

١. الشريك، يوسف محمد(١٩٩٦) .تكنولوجيا اللحوم ومخلفاتها (الجودة – الحفظ– التداول) – الدار العربية للنشر والتوزيع . كلية الزراعة – جامعة الفاتح ، طرابلس. ليبيا.

٢. الطائي، منير عبود جاسم. (٢٠٠٥).منتجات غذائية ودوائية من الاسماك والروبيان ومخلفاتهما. Marina Mesopotamica ,20(1):157-170
٣. المظفر ، عدنان وهاب حبيب (٢٠٠٥). تصنيع متحللات بروتينية من ريش الدواجن واختبار أدائها الإنتاجي على فروج اللحم (فاوبرو). أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد.

4. A.O.A.C. (1984).Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Washigton, D.C, U.S.
5. Choudhury, G. S., and Bublitz C. G. (1996). Computer-based controls in fish processing industry. In Computerized Control Systems in the Food Industry, Mittal G.S. (Ed.),: 513-538, Inc., Marcel Dekker. New York
6. Cowan, D. (1983). Industrial enzymology, The Application in Industry. Edited by: Godfrey, T. and Reichelt, J. Mac Millian Publishers Ltd.
7. Eddleman, H. (1999). Ingredients used in microbiological media: The manufacture and purpose of these ingredients bacteria studylist- Http //:www .Diskent.com/ Indiana- boilab/b.htm .
8. Gao, M.-T.; Koide, M.; Gotou, R.;Takanashi, H.; Hirata, M.and Hano, T. (2005). Development of continuous electrodialysis fermentation system for Lactobacillus rhamnosus based production of lactic acid. Process Biochem. 40: 1033–1036.
9. Gildberg, A. and Senberg, E. (2001). Anew process for advance utilifation of shrimp waste,process Biochemistry 36: 809-812.
10. Jasim , M.A. (1983). Functional plastein from fish waste. Ph.D. Thesis Loughborough University of Technology. England.
11. Kurbanoglu, E.B.and Algur,O. F.(2002). Use of ram horn hydrolysate as peptone for bacterial growth. Turk. J. Biol.; 26: 115-123.
12. Kida, K.; Morimura, S.; Noda, J.; Nishide, Y.; Imai,T. and Dtagiri, M. (1995). Enzymatic hydrolysis of the horn and hoff of cow and buffalo .J. Fermentation and Bioengineering (Japan) 8: 478-484.
13. Lowry, O.H.; Rosebrough , N. J.;Rorr,A. L. and Randll ,R. J.(1951). Protein measurememt with the Folin phenol reagent .J.Biological Chemistry, 193:265-275.
14. Pearson, D. (1971). The Chemical Analysis of Foods.6 th. Ed. Chemical Publishing Co., Inc. New York:

15. Stephen, N.L.; Bough, W.A.; Beuchat, L.R. and Heaton, E.K. (1976). Preparation and Evaluation of Two Microbiological Media From shrimp and hulls. Applied and Environmental Microbiology, 13. 1-6.
16. The Himedia Manual. (2003). For Microbiology Cell Culture Laboratory Practice Himedia Laboratrcs PUT. Limited, A-406, Bhaveshawr Plaza, LBS .marg Mumbai-400086- India.
17. Tinnimitt, P.; mccnuffey, Y.Y. and Thomas, J.W. (1972). Bried animal Wastes as a protein supplement For sheep .J.Anim Sci., 35: 431-456.
18. Tsoraeva, A. and Zhurbenko , R.(2000). Development and characterization of a mixed nutrient base for the culture of a wide range of microorganisms. Revista latiu on mericana de microbilogia 42: 155-161.
19. Uzeh R.E.; Akiola, S.O. and Olatope, S.O.A. (2006). Production of peptone from soya beans (Glycine max L merr) and African locusts beans (Parkia biglobose). Afr. J. Biotechnol. 5: 1681-1686.
20. Witaker, J.R. (1958). Properties of the Proteolytic enzymes of commercial ficin. J. Food Research, 22: 483-493.
21. Yamashita, M.; Arai, S.; Goda, M.; Kato, H. and Fujimaki, M; (1970). Enzymatic modification of proteins in foodstuffs. II. Nutritive properties of soy plastein and its bio-utility evaluation in rats. J. Agric. Biol. Chem., 34:1333-1339.

Basrah J.Agric. Sci., 23(1)2010

PREPATION TOW PROTEIN HYDROLYSATES FROM CHICKEN LEGS AND RAW SHRIMP WASTE BY USING

ENZYMATIC DIGESTION AND TEST THEIR EFFICIENCY IN MICROBIAL GROWTH

A.H. Jabber **R. M. Ali** **M. Z .Sscandar**

SUMMARY

Two protein hydrolysates were prepared from animals by-product (chicken legs and raw shrimp waste) by using commercial fungal enzyme(Renzyme 36.7unit\mg). The chemical composition of Protein hydrolysates that include percentage of total solid matter, total nitrogen, Protein,lipid,ash ,yield and degree of analysis were studied, Also the physical properties of Protein hydrolysates were studied (pH and color), The best concentration of hydrolysates for preparing media was 12% for C, 8% for D, The Protein hydrolysates were added to two types of media (peptone broth and agar) and (nutrient broth and agar) instead of their peptone .Their ability to support the growth of microorganisms by cultivating natural samples (water, soil,milk and meat). The samples were incubated in 37C◦ for (24-48) h. A comparison was made with some commercially available media, also some selected types of bacteria *(Streptococus* spp., *Staph.aureus, L.casei and E. coil*) have been cultivated in these media.

Part of M. Sc. thesis of the third author.
College of Agric. of Basra –Basra, Iraq